

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-074756

(43)Date of publication of application : 23.03.2001

(51)Int.Cl.

G01N 35/10  
C12M 1/00  
C12N 15/09  
G01N 1/00  
G01N 33/50

(21)Application number : 11-245116

(71)Applicant : HITACHI LTD

(22)Date of filing : 31.08.1999

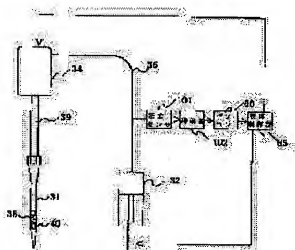
(72)Inventor : SAKURAI TOMOYA  
YOKOBAYASHI TOSHIAKI

## (54) PRETREATMENT DEVICE OF SPECIMEN

(57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To achieve the pretreatment device of a specimen that can accurately judge the deterioration of a solid phase in a nozzle that brings a sample into contact.

**SOLUTION:** In the pretreatment device, pressure is reduced by a syringe 32 for sucking the mixing liquid of a specimen and a combination accelerator into the inside of a nucleic acid capture chip 31. After fixed time from a point when the reduction of the pressure is started, the pressure in piping 35 is measured. When a pressure value is outside a specific pressure range r1, entire liquid in the chip 31 is discharged, the chip 31 is removed from a nozzle 39, and the new chip 31 is connected to the nozzle 39. On the other hand, when the pressure value is within the range r1, it is judged that a solid phase 38 in the chip 31 is normal, and suction and discharge are repeated for a specific number of times for bringing the solid phase into contact with the mixing liquid only when the pressure value of the piping 35 exists within a specific pressure range r2 while the operation of the syringe 32 is stopped, and at the same time the pressure value is within a pressure range r3 after fixed time t3 from a point when the operation of the syringe 32 is stopped.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 04.06.2001

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3425902

[Date of registration] 09.05.2003

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-74756

(P2001-74756A)

(43) 公開日 平成13年3月23日 (2001.3.23)

| (51) Int.Cl. <sup>7</sup>            | 識別記号  | F I           | テームド (参考)         |
|--------------------------------------|-------|---------------|-------------------|
| G 0 1 N 35/10                        |       | G 0 1 N 35/06 | A 2 G 0 4 5       |
| C 1 2 M 1/00                         |       | C 1 2 M 1/00  | A 2 G 0 5 8       |
| C 1 2 N 15/09                        |       | G 0 1 N 1/00  | 1 0 1 K 4 B 0 2 4 |
| G 0 1 N 1/00                         | 1 0 1 | 33/50         | P 4 B 0 2 9       |
| 33/50                                |       | C 1 2 N 15/00 | A                 |
| 審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 10 頁) 最終頁に続く |       |               |                   |

(21) 出願番号 特願平11-245116

(22) 出願日 平成11年8月31日 (1999.8.31)

(71) 出願人 000005108

株式会社日立製作所

東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地

(72) 発明者 板井 智也

茨城県ひたちなか市市毛892番地 株式会

社日立製作所計測器グループ内

(72) 発明者 横林 敏昭

茨城県ひたちなか市市毛892番地 株式会

社日立製作所計測器グループ内

(74) 代理人 100077816

弁理士 春日 譲

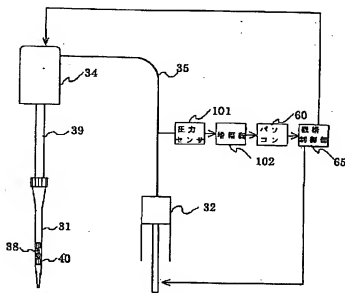
最終頁に続く

## (54) 【発明の名称】 検体の前処理装置

## (57) 【要約】

【課題】 ノズル内に有する、サンプルを接触させる固相の劣化を正確に判断することができる検体の前処理装置を実現する。

【解決手段】 シリンジ32により減圧して核酸捕捉チップ31の内部へ検体と結合促進剤との混合液を吸引する。減圧開始時点から一定時間経過後に配管35内の圧力を計測し、圧力値が所定の圧力範囲r1外の場合にはチップ31内の液体を全て吐出しチップ31をノズル39から取り外して新規なチップ31をノズル39に接続する。圧力値が範囲r1内であればシリンジ32の動作停止時間の配管35内の圧力値が所定の圧力範囲r2内であり、かつ、シリンジ32の動作を停止した時点から一定時間t3後の圧力値が圧力範囲r3内の場合のみ、チップ31内の固相38を正常と判定し、所定の回数吸引と吐出を繰り返して固相38と混合液とを接触させる。



(2)

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】液体である検体と接触する固相を設置した配管と、圧力発生源と、この圧力発生源の動作による圧力変化により上記固相を介して上記配管に液体の吸引と吐出とを行い、検体の前処理を行う検体の前処理装置において、

上記配管内の圧力変化を検知する圧力検知手段と、  
上記圧力発生源の動作開始時の上記配管内の圧力値が第1の圧力範囲内であり、かつ、上記圧力発生源の動作停止時の上記配管内の圧力値が第2の圧力範囲内であるときに上記固相は正常であると判断する判断手段と、  
備えることを特徴とする検体の前処理装置。

【請求項2】請求項1記載の検体の前処理装置において、上記固相は、検体中の特定の成分を捕捉する機能を備え、上記固相はシリカを含有する物質であり、捕捉する特定の成分は核酸であることを特徴とする検体の前処理装置。

【請求項3】請求項2記載の検体の前処理装置において、上記配管の先端部分にはチップが設置され、上記固相は上記チップに配置され、上記チップが検体毎に交換可能であることを特徴とする検体の前処理装置。

【請求項4】請求項3記載の検体の前処理装置において、上記チップと検体とが接触する前段階で上記固相の状態を判断し、固相が不良と判断した場合に、自動的に新規チップに交換する機能を備えることを特徴とする検体の前処理装置。

【請求項5】請求項1、2、3、4のうちのいずれか一項記載の検体の前処理装置において、上記配管の先端部分にはチップが設置され、上記固相は上記チップに配置され、上記チップを配管に取り付けた状態で検体に接触させ、上記圧力発生源により配管内を減圧し、上記判断手段は、圧力発生源の作動後の配管内の圧力変化を経時的に検知し、固相を不良と判断した場合に、検体を吐出した後、自動的に新規チップに交換する機能を備えることを特徴とする検体の前処理装置。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、検体の前処理装置に関し、特に、核酸を含有する物質からの核酸を回収するための検体の前処理装置に関する。

【0002】

【従来の技術】分子生物学の進歩によって、遺伝子に関する数々の技術が開発され、また、それらの技術により多くの疾患性の遺伝子が分離・同定された。その結果、医療の分野でも、診断、或いは、検査法に分子生物学的な技法が取り入れられ、従来不可能であった診断が可能となったり、検査日数の大幅短縮が達成されつつある。

【0003】この急激な進歩は、主として、核酸増幅法、特に、PCR法 (polymerase chain reaction: ポリメラーゼ連鎖反応、Sal

kiet al., Science, 239, 487-491 (1988)) に依るところが大きい。

【0004】PCR法は、溶液中の核酸を配列特異的に増幅することが可能なため、例えば、血清中に極微量しか存在しないウイルスをそのウイルスの遺伝子である核酸を増幅し検出することにより、簡便的に証明できる。

【0005】しかし、このPCR法を臨床の場で日常検査に使用した際に、いくつかの問題が存在する。その中でも特に、検体の前処理における核酸の抽出、精製工程の重要性が指摘されている (大島ほか, J J C L A, 22 (2), 145-150 (1997))。これは、核酸精製時に除去し得なかった阻害因子の影響によるものであり、この阻害因子としては、血液中のヘモグロビン、抽出工程で使用される界面活性剤等が知られている。

【0006】また、抽出工程に関しては、用手法による煩雑な操作と熟練者による多大な労力が必要とされる。そのため、病院の検査室へ新規に遺伝子検査を導入する際の障害となっており、この工程の自動化が熱望されている。

【0007】また、分子生物学的な研究を行う機関では、遺伝子組換え操作を行うための材料として、プラスミドDNAが頻繁に使用されているが、省力化の点等から、検査室の場合と同様に、核酸を抽出し精製する工程の自動化が望まれている。

【0008】核酸を含有する生物試料から阻害因子を含まない精製度の高い状態で核酸を回収するための既知の方法としては、タンパク質分解酵素の存在下で、生物試料に界面活性剤を作用させ、核酸を遊離状とし、フェノール (及び、クロロフォルム) と混合し、遠心分離器による水相・有機相分離を数回行った後、水相からアルコールにより沈殿物の形で核酸を回収する方法が知られている。

【0009】しかし、この調製方法は、工程内に劇物であるフェノール等の有機溶剤を使用する、或いは、遠心分離工程を必要とするため、遠心分離器のロータへの容器の出入れや遠心分離後の溶液の分取などの自動化が非常に困難である、という問題が存在する。

【0010】また、上記の水相・有機相分離を利用した方法以外にも、カオトロピック物質の存在下でガラス表面に核酸が結合する性質を利用して、アガロースゲルからDNAを回収する方法 (B. Vogelstein and D. Gillespie, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 76 (2), 615-619 (1979)) が報告されている。

【0011】この方法では、劇物であるフェノールの使用は避けられるが、ガラス表面に核酸を結合させた後のガラスと溶液の分離には遠心分離工程を必要とするため、上記の水相・有機相分離と同様に遠心分離工程の自動化が問題となる。

(3)

【0012】遠心分離工程を回避するための先行技術としては、抗原抗体反応反応を利用した免疫分析装置におけるB/F (bond form/free form) 分離技術が応用可能である。

【0013】また、本技術への応用が好適な技術としては、サンプルプローブチップにくびれを有し、そのくびれとくびれの間に抗体を物理的あるいは化学的に結合させた樹脂を充填する技術が存在する(特開昭63-88456号公報)。

【0014】この先行技術において、抗体を結合させた樹脂の代わりにシリカを含有する固相を使用することにより核酸の回収に応用可能であるが、固相をくびれとくびれの間に封入するため、サンプルプローブチップの成形が非常に困難となる。

【0015】そのため、具体的には図7、或いは、図8に示すような形状の核酸捕捉チップ31を作成し、液体吸引用可動ノズルとの組み合わせにより核酸の回収に好適となる。

【0016】つまり、核酸を含む検体を固相38又は41に数回往復通過させて、固相38又は41に捕捉させるものである。なお、40は固相38を核酸捕捉チップ31内に保持するための保持材である。

【0017】

【発明が解決しようとする課題】 上述したように、核酸を回収する技術においては、核酸を含む検体を固相38又は41に数回往復通過させて、固相38又は41に捕捉させる必要があるため、固相38又は41の良否が核酸の回収量に大きく影響する。このため、核酸捕捉チップ31の固相38又は41の良否を核酸回収処理中に自動的に判別することができれば非常に便利である。

【0018】そこで、特開平2-184762号公報又は特開平6-27120号公報に記載された技術を利用することが考えられる。つまり、これらの公報に記載された技術は、サンプルを吸引するノズルの吸引口が閉塞状態であるか否かを、ノズルの吸引動作が開始されてから、例えば一定時間経過後のノズル内の圧力を検出し、圧力変化率が所定値以上であれば、ノズルの吸引口が閉塞状態であると判断するものである。

【0019】しかしながら、これらの公報に記載された技術は、正常時にはその先端部分には、固相等を有していない状態のノズルの先端状態を判断する技術であるため、核酸捕捉チップの先端部分に予め配置されている固相の良否を判断する技術に、そのまま適用したとしても、正確な判断は困難である。

【0020】つまり、核酸捕捉チップの場合は、サンプルが固相を通過することが前提条件であるため、サンプルの吸引開始時から十分な量のサンプルを吸引するまでのチップ内圧力変化は、上記公報に記載のノズルの圧力変化とは同等なものとはいえない。核酸捕捉チップの場合は、サンプルの吸引開始時から一定時間後、所定の

4

圧力値又は圧力変化率を満足していたとしても、その後、さらにサンプルを吸引して固相を通過させる必要があるため、十分なサンプルを吸引する前に、固相が劣化することも考えられる。このようなときには、上記公報記載の技術では、固相の劣化を判断することは困難である。

【0021】したがって、その先端部分に有する、サンプルを通過させる固相の劣化を正確に判断することができ、技術の実現が望まれていた。

【0022】本発明の目的は、ノズル内に有する、サンプルを接触させる固相の劣化を正確に判断することができ、固相の劣化を実現することである。

【0023】

【課題を解決するための手段】 上記の目的を達成するために、本発明は以下のように構成される。

(1) 液体である検体と接触する固相を設置した配管と、圧力発生源と、この圧力発生源の動作による圧力変化により上記固相を介して上記配管に液体の吸引と吐出とを行い、検体の前処理を行う検体の前処理装置において、上記配管内の圧力変化を検知する圧力検知手段と、上記圧力発生源の動作開始時の上記配管内の圧力値が第1の圧力範囲内であり、かつ、上記圧力発生源の動作停止時の上記配管内の圧力値が第2の圧力範囲内であるときに上記固相は正常であると判断する判断手段と備える。

【0024】(2) 好ましくは、上記(1)において、上記配管の先端部分にはチップが設置され、上記固相は上記チップに配置される。

【0025】(3) また、好ましくは、上記(1)又は(2)において、上記判断手段が判断した上記固相の状態に基づいて、警告表示を行う手段を備える。

【0026】(4) また、好ましくは、上記(1)、(2)、(3)において、上記固相は、検体中の特定の成分を捕捉する機能を備える。

【0027】(5) また、好ましくは、上記(4)において、上記固相はシリカを含有する物質であり、捕捉する特定の成分は核酸である。

【0028】(6) また、好ましくは、上記(3)、(4)、(5)において、上記配管の先端部分にはチップが設置され、上記固相は上記チップに配置され、上記チップが検体毎に交換可能である。

【0029】(7) また、好ましくは、上記(1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)において、上記配管の先端部分にはチップが設置され、上記固相は上記チップに配置され、上記チップを配管に取り付けた状態で特定の溶液に接触させ、上記圧力発生源により配管内を減圧し、上記判断手段は、圧力発生源の作動後の配管内の圧力変化を経時的に検知することにより固相の状態を判断する機能を備える。

【0030】(8) また、好ましくは、上記(6)、

(5)

(4)

(7)において、上記チップと検体とが接触する前段階で上記固相の状態を判断し、固相が不良と判断した場合に、自動的に新規チップに交換する機能を備える。

【0031】(9)また、上記(7)において、上記特定の溶液に検体を使用し、固相を不良と判断した場合に、検体を吐出した後、自動的に新規チップに交換する機能を備える。

【0032】配管の内部へ検体を吸引する際、圧力発生開始時点から一定時間経過後に配管内の圧力を計測し、第1の圧力範囲内であれば、さらに、圧力発生を停止した時間において、配管内の圧力を計測し、第2の圧力範囲内であれば、ノズル内の固相は正常と判定し、所定の回数吸引と吐出を繰り返し、固相と検体とを接触させる。

【0033】したがって、ノズル内に有する、検体を接触させる固相の劣化を正確に判断することができる検体の前処理装置を実現することができる。

【0034】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施形態を添付図面に基づき説明する。図1は、本発明の一実施形態である検体の前処理装置100の原理構成概略図、図2は上記検体の前処理装置の外観図、図3は上記装置の平面図、図4は上記装置の動作制御ブロック図、図5はノズルへのチップの取り付け動作説明図、図6はノズルからのチップの取り外し動作説明図、図9はノズル又は配管内の圧力変化を示す図である。

【0035】シリンジ(圧力発生源)10、32は、それぞれ独立に、且つ、自動的に液体の吸引と吐出の制御を行うことができる。シリンジ10、32は、それぞれ配管42、ノズルホルダー17、配管35、ノズルホルダー34を介して、ノズル36、39に、それぞれ独立に接続されている。また、分注ノズル36、液体吸排用可動ノズル39はノズルホルダー17、34にそれぞれ固定されており、ノズルホルダー17、34は、それぞれアーム16、33にY方向(図2のアーム16、33の長手方向)、Z方向(図2のアーム16、33の長手方向に直交する方向)への移動が可能な状態で固定されている。

【0036】アーム16、33は、それぞれ独立にX方向(上記Y方向及びZ方向にの両方向に直交する方向)への移動が可能であり、Z方向の位置に互いに差を持たせる事により、X方向に一部分をオーバーラップすることができる。これにより、ノズルホルダー17、34とアーム16、33の動作の組み合わせにより、装置平面状の主要な部分へノズルの移動することができる。

【0037】また、ノズルホルダー34とシリンジ2との間の配管35には圧力センサ101に取り付けられている。そして、この圧力センサ101により配管35内の圧力変化を電気信号に変換する。電気信号に変換された圧力変化は、増幅器102により増幅され、PC

(パソコン)60に圧力変化の情報として取り込まれ、処理される。65は、機構制御部であり、この機構制御部65はPC60からの指令により、ノズルホルダー34、シリンジ32等の動作を制御する。

【0038】分注チップホルダー14(図2、図3)には分注チップを収納することができ、装置上に同じチップホルダーを計3個(14a、14b、14c)設置することができる。また、反応容器ラック23には反応容器24が48本設置でき、精製品ラック25には精製品収納容器26が48本設置できる。

【0039】また、装置上には、洗浄液ボトル19、溶離液ボトル20、希釈液ボトル21、結合促進剤ボトル22をそれぞれ1ボトルづつ設置できる。そして、核酸捕捉チップラック30には、分注チップ31を48本設置することができる。

【0040】アーム16とノズルホルダー17の動作を制御することにより、チップホルダー14(14a、14b、14c)上の目的とする分注チップ15の上方へノズル36を移動させた後、下方へノズルホルダー17を移動し、分注チップ15の所定の位置とノズル36とを接触させる。これにより、ノズル36の先端にチップ15を自動的に取り付けることができる。これと同様の制御をノズル39、ノズルホルダー34、アーム33に対して行うことにより、ノズル39の先端に核酸捕捉チップ31を取り付けることができる。

【0041】アーム16とノズルホルダー17とを動作制御することにより、チップ抜き27の手前上方へノズル36を移動させた後、ノズルホルダー17によりノズル36と分注チップ15との接合部がチップ抜き27よりも下部になるように移動され、更に、ノズル36をチップ抜き27の方向へ移動させる。

【0042】その後、ノズル39の一部をチップ抜き27に接触したままノズルホルダー17を上方に移動させることにより、ノズル36から分注チップ15を自動的に取り外すことができる。つまり、図6に示すような状態となる。

【0043】これと同様の制御をノズル39、ノズルホルダー34、アーム33に対して行うことにより、ノズル39から核酸捕捉チップ31を取り外すことができる。また、チップ抜き27を、使用するチップの種類に応じて、それぞれ設置することにより廃棄チップの分別収集を行うことも可能である。

【0044】液受け11、28は、ノズル36、39からの吐出液を受ける事が可能で、それぞれのホームポジションにおいて機能し、受けた液体は廃液として送られる。洗浄部18は、流水の吐出によりノズルホルダー17にノズル36を介して取り付けられた分注チップ15を洗浄することができる。

【0045】図7に示した核酸捕捉チップ31は、チップ内の先端部上下に保持材40が設置され、これら2つ

(5)

の保持材40により固相38が封入された状態が維持できるように作成されている。この核酸捕捉チップ31は、図2に示した装置上の核酸捕捉チップラック30に収納可能である。

【0046】ここで、保持材40としては、使用する液体及び気体に対し耐食性と通過性を有し、且つ、固相38の通過を阻止できる物質であれば利用可能だが、非特異的なタンパク質や核酸等の吸着は核酸溶液の精製度や収率に影響を与えるため、非特異吸着の少ない物質の使用が望ましい。

【0047】ここでは、保持材40としてポリプロピレンを使用し、チップ31内部への固定には、接着剤の使用は固相38内部への浸漬による通水及び通気性の阻害を引き起こす可能性があり好ましくないため、圧入により設置した。また、固相38は、ガラス粒子、石英粒子、石英濾紙、石英ウール、あるいは、それらの破砕物や加工物など、酸化ケイ素を含有する物質であれば使用することができるが、ここでは、保持材40の隙間よりも粒径の大きな石英粒子を用いた。

【0048】また、図8に示した核酸捕捉チップ31は、このチップ31の内径の一部と同等の外径を有する固相41を配置し、この固相41がチップ31内に保持できるように作成されている。そして、図8に示したチップ31は、図2に示した装置上の核酸捕捉チップラック30に収納可能である。

【0049】ここで、固相41は通水及び通気性を有した酸化ケイ素含有物質で、且つ、固相41単独でチップ31内部に保持可能であれば形状等に制限はない。ただし、接着剤の使用は固相41内部への浸漬による通水及び通気性の阻害、或いは、固相表面の化学的・物理的修飾を引き起こす可能性があるため好ましくない。

【0050】ここでは石英粒子を通水及び通気可能な状態で、且つ、チップ31内部の一部と同等な外径を有する状態に焼結した物質（石英焼結体）を固相41とし、核酸捕捉チップ31の上部より圧入して使用した。固相41が使用或いは輸送等に際して、破砕が発生する可能性が高い場合、或いは、輸送中等にチップ31外へ飛び出す可能性がある場合は、図7に示したチップ31と同様に保持材40により挟み込む形を取ってもよい。

【0051】次に、図4を参照して、前処理装置100の動作制御ブロックを説明する。図4において、シリンジ10、32は、PC60が機構制御部65により、それぞれステッピングモータ71、72を制御することにより動作が制御される。また、ノズルホルダー17、34は、PC60が機構制御部65により、それぞれステッピングモータ73、74を制御することにより動作が制御される。アーム16、33は、PC60が機構制御部65により、それぞれA/Cサーボモータ75、76を制御することにより動作が制御される。

【0052】操作者の指令は、キーボード61を介して

8

PC60に供給される。また、PC60の制御により、種々の情報がCRT62に表示される。例えば、固相が不良であると判断された場合には、その旨を警告する表示をCRT62により行う。

【0053】次に、核酸を有する検体の核酸を捕捉し、回収するための動作を説明する。アーム16とノズルホルダー17の動作を制御することにより、ノズル36に分注チップ15を所定の動作により取り付ける。その後、アーム16とノズルホルダー17、及び、シリンジ10の動作を制御することにより、結合促進剤ボトル22から所定量の結合促進剤を分注チップ15に吸引し、更に、所定量の空気を吸引する。そして、分注チップ15を洗浄台18へ移動し、分注チップ15の外壁を流水洗浄する。

【0054】分注チップ15の外壁の洗浄後、ノズルホルダー17を検体ラック12上の所定の検体13の位置へ移動し、シリンジ10の動作を制御することにより所定量の検体に分注チップ15に吸引される。そして、分注チップ15の検体の吸引後、ノズルホルダー17を反応容器ラック23上に移動し、ラック23の所定の反応容器24に分注チップ15内の検体の全量を吐出する。

【0055】検体を反応容器24へ吐出した後、更に反応容器24内の検体を分注チップ15により吸引と吐出を行うことにより検体と結合促進剤を混合する。検体と結合促進剤との混合後、ノズルホルダー17をチップ抜き27の位置へ移動し、上述した所定の動作によりノズル36から分注チップ15を取り出す。

【0056】アーム33とノズルホルダー34の動作を制御することにより、ノズル39に核酸捕捉チップ31を所定の動作により取り付ける。その後、ノズルホルダー34を反応容器ラック23上の上記混合液（検体と結合促進剤との混合液）の投入した反応容器24に移転する。そして、シリンジ32の動作を制御することにより、核酸捕捉チップ31の内部へ上記混合液を吸引する。

【0057】このとき、核酸捕捉チップ31内の固相38又は41が不良であると、十分に核酸を捕捉することが困難となる。このため、固相38又は41の良否が、核酸捕捉チップ31の内部へ上記混合液を吸引するときには判定される。なお、固相の良否の判定は、PC60が行うものである。また、後述する経過時間の判断もPC60が行うものである。

【0058】上記固相38又は41の良否の判定について以下に説明する。核酸捕捉チップ31の内部へ上記混合液を吸引する際の配管35内の圧力変化を経時的に検知した結果を図9に示す。

【0059】図9において、横軸は時間を表し、時間0はシリンジ32の動作により、上記混合液の吸引のために配管35内の減圧を開始した時間を示す。また、縦軸は、流路（配管35）内での圧力変化を表す。

(6)

【0060】減圧開始時点から一定時間  $t_1$  経過後（固相 38、41 が正常である場合に、配管 35 内の圧力が安定値付近となる時間であり図 9 の例では約 0.15 s）に配管 35 内の圧力を計測する。計測した圧力値が、所定の圧力範囲  $r_1$  内（図 9 の例では約  $-0.025 \sim -0.06 \text{ kgf/cm}^2$ ）が否かを判定して、範囲外であった場合には、核酸捕捉チップ 31 内に吸引した液体を全て吐出した後、核酸捕捉チップ 31 をノズル 39 から取り外し、新規な核酸捕捉チップ 31 をノズル 39 に接続する。そして、核酸捕捉チップ 31 により一度吸引吐出した溶液を再吸引し、減圧開始時点から一定時間  $t_1$  経過後に配管 35 内の圧力を計測する。

【0061】配管 35 内の圧力値が、圧力範囲  $r_1$  内であれば、シリンジ 32 の動作を停止した時間  $t_2$ （図 9 の例では約 5 s）において、配管 35 内の圧力を計測する。計測した圧力値が、所定の圧力範囲  $r_2$  内（図 9 の例では約  $-0.04 \sim -0.075 \text{ kgf/cm}^2$ ）が否かを判定して、範囲外であった場合には、核酸捕捉チップ 31 内に吸引した液体を全て吐出した後、核酸捕捉チップ 31 をノズル 39 から取り外し、新規な核酸捕捉チップ 31 をノズル 39 に接続する。そして、核酸捕捉チップ 31 により一度吸引吐出した溶液を再吸引し、減圧開始時点から一定時間  $t_1$  経過後に配管 35 内の圧力を計測する。

【0062】そして、時間  $t_1$  における圧力範囲  $r_1$  を満足し、さらに、時間  $t_2$  における圧力範囲  $r_2$  を満足する場合には、シリンジ 32 の動作を停止した時点から一定時間  $t_3$ （図 9 の例では  $t_2$  から約 1 s）経過後に、配管 35 内の圧力を計測する。そして、計測した圧力値が圧力範囲  $r_3$  内（図 9 の例では約  $0.02 \sim 0.01 \text{ kgf/cm}^2$ ）が否かを判定する。

【0063】計測した圧力値が圧力範囲  $r_3$  内でなければ、核酸捕捉チップ 31 内に吸引した液体を全て吐出した後、核酸捕捉チップ 31 をノズル 39 から取り外し、新規な核酸捕捉チップ 31 をノズル 39 に接続する。そして、核酸捕捉チップ 31 により一度吸引吐出した溶液を再吸引し、上述した固相 38、41 の良否判定を実行する。

【0064】計測した圧力値が圧力範囲  $r_3$  内であれば、核酸捕捉チップ 31 内の固相 38、41 は正常と判定し、所定の回数吸引と吐出を繰り返し、固相 38、41 と混合液とを接触させる。

【0065】つまり、吸引のための減圧開始から一定時間  $t_1$  経過後、シリンジ 32 の動作を停止した時点  $t_2$ 、この時点  $t_2$  から一定時間  $t_3$  経過後における配管 35 内の圧力値を計測し、吸引した混合液の粘性から予想される流路内圧力値が個体差の範囲内が否かを判定し、範囲  $r_1$ 、 $r_2$ 、 $r_3$  の全てを満足する場合に、固相 38、41 が正常であると判定する。

【0066】上述したように、固相 38、41 を判定す

10

ることにより、固相 38、41 の良否を正確に判定して、正常な固相 38、41 に十分な量の混合液を往復通過させ、核酸を捕捉させることができる。なお、場合によっては、時点  $t_2$  から  $t_3$  時間経過後の判定は省略することも可能である。

【0067】固相 38、41 を正常と判定し、所定の回数、吸引と吐出とを繰返した後、核酸捕捉チップ 31 内に反応容器 24 内の混合液を吸引した後、アーム 33、ノズルホルダー 34 の動作制御により、チップ 31 を廃液口 29へ移動する。そして、核酸捕捉チップ 31 内の混合液をシリンジ 32 の制御により廃液口 29へ吐出する。混合液の廃液口 29への吐出後、アーム 33、ノズルホルダー 34 の動作制御により液受け 28へチップ 31 を移動する。

【0068】アーム 16 とノズルホルダー 17 の動作を制御することにより、ノズル 36 に分注チップ 15 を取り付けした後、アーム 16 とノズルホルダー 17、及びシリンジ 10 の動作を制御することにより洗浄液ボトル 19 から所定量の洗浄液を吸引する。そして、ノズルホルダー 17 を動作させ、反応容器ラック 23 上の所定の反応容器 24 上に洗浄液を吐出する。

【0069】洗浄液の吐出後、アーム 16 とノズルホルダー 17 の動作を制御することにより、ノズルホルダー 17 をチップ抜き 27 の位置へ移動し、所定の動作によりノズル 36 から分注チップ 15 を取り外す。

【0070】ノズルホルダー 17 の移動後、アーム 33、ノズルホルダー 34 の動作を制御することにより、洗浄液の入った反応容器ラック 23 上の所定の反応容器 24 に核酸捕捉チップ 31 を移動し、シリンジ 32 の動作により核酸捕捉チップ 31 内へ洗浄液を吸引する。洗浄液の吸引後、シリンジ 32 の動作により、所定の回数吸引と吐出を繰り返し、固相 38 を洗浄液により洗浄する。

【0071】所定の回数、吸引と吐出を繰返した後、核酸捕捉チップ 31 内に反応容器 24 内の洗浄液を吸引した後、アーム 33、ノズルホルダー 34 の動作を制御することにより核酸捕捉チップ 31 を廃液口 29へ移動し、核酸捕捉チップ 31 内の洗浄液をシリンジ 32 の動作により吐出する。洗浄液の吐出後、アーム 33、ノズルホルダー 34 の動作により核酸捕捉チップ 31 を液受け 28へ移動させる。

【0072】必要に応じて、上記核酸洗浄工程は所定の回数繰返す。その際には、上記核酸洗浄工程をそのまま繰返してもよいが、複数回分の洗浄液を分注チップ 15 に吸引し、必要量を反応容器 24へ吐出する。そして、洗浄液の吐出後、液受け 11 の位置へ移動し、核酸捕捉チップ 31 の洗浄操作後、再び必要量の洗浄液を反応容器 24へ分注チップ 15 により吐出することにより、効率良く上記核酸洗浄工程を繰返すことが出来る。

【0073】次に、アーム 16 とノズルホルダー 17 の



(7)

11  
動作を制御することにより、ノズル 36 に分注チップ 15 を取り付けした後、アーム 16 とノズルホルダー 17、及びシリンジ 10 の動作により溶離液ボトル 20 から所定量の溶離液を吸引し、ノズルホルダー 17 を反応容器ラック 23 上の所定の反応容器 24 に溶離液を吐出する。

【0074】溶離液の吐出後、アーム 16 とノズルホルダー 17 の動作を制御することにより、ノズルホルダー 17 をチップ抜き 27 の位置へ移動し、所定の動作によりノズル 36 から分注チップ 15 を取り外す。

【0075】ノズルホルダー 17 の移動後、アーム 33、ノズルホルダー 34 の動作を制御することにより、溶離液の入った反応容器ラック 23 上の所定の反応容器 24 に核酸捕捉チップ 31 を移動し、シリンジ 32 の動作により核酸捕捉チップ 31 へ溶離液を吸引する。溶離液の吸引後、シリンジ 32 の動作により、所定の回数吸引と吐出を繰り返し、固相 38 と溶離液とを接触させる。

【0076】所定の回数、吸引と吐出を繰返した後、核酸捕捉チップ 31 内に反応容器 24 内の溶離液を吸引した後、アーム 33、ノズルホルダー 34 の動作を制御することにより、精製品ラック 25 に収納された所定の精製品収納容器 26 へ核酸捕捉チップ 31 を移動し、核酸捕捉チップ 31 内の溶離液をシリンジ 32 の動作により反応容器 26 に吐出する。溶離液の吐出後、アーム 33、ノズルホルダー 34 の動作により液受け 28 へ核酸捕捉チップ 31 を移動させる。

【0077】必要に応じて、上記溶離工程は所定の回数繰り返す。その際には、上記溶離工程をそのまま繰返してもよいが、複数回分の溶離液を分注チップ 15 に吸引し、必要量を反応容器 24 へ吐出する。そして、溶離液の吐出後、液受け 11 の位置へ分注チップ 15 を移動し、核酸捕捉チップ 31 の吸引吐出操作後に、再び必要量の溶離液を分注チップ 15 により反応容器 24 へ吐出することにより、効率良く上記溶離工程を繰返すことが出来る。

【0078】上記工程終了後、アーム 33、ノズルホルダー 34 の動作を制御することにより、ノズルホルダー 34 をチップ抜き 27 の位置へ移動し、所定の動作によりノズル 39 から核酸捕捉チップ 31 を取り外す。

【0079】以上のように、本発明の一実施形態によれば、核酸捕捉チップ 31 の内部へ上記混合液を吸引する際、減圧開始時点から一定時間  $t_1$  経過後に配管 35 内の圧力を計測し、所定の圧力範囲  $r_1$  内か否かを判定して、範囲外であった場合には、核酸捕捉チップ 31 内に吸引した液体を全て吐出した後、核酸捕捉チップ 31 を新規な核酸捕捉チップ 31 をノズル 39 に接続する。そして、配管 35 内の圧力値が、圧力範囲  $r_1$  内であればシリンジ 32 の動作を停止した時間  $t_2$  において、配管 35 内の圧力を計測し、所定の圧力範囲  $r_2$  内か否かを

12

判定し、範囲内であれば、シリンジ 32 の動作を停止した時点から一定時間  $t_3$  経過後に、配管 35 内の圧力を計測する。そして、計測した圧力値が圧力範囲  $r_3$  内か否かを判定する。計測した圧力値が圧力範囲  $r_3$  内であれば、核酸捕捉チップ 31 内の固相 38、41 は正常と判定し、所定の回数吸引と吐出を繰り返し、固相 38、41 と混合液とを接触させる。

【0080】したがって、ノズル内にする、サンプルを接触させる固相の劣化を正確に判断することができる。10 検体の前処理装置を実現することができる。

【0081】なお、上述した例においては、シリンジ 32 により配管 35 内を減圧することにより、検体等をノズル内に吸引するように構成したが、検体等を加圧することにより、ノズル内に供給することも可能である。この場合には、固相の良否判定は、配管 35 内の加圧変化を検出して判断すればよい（図 9 の圧力曲線を正側に反転させた圧力曲線になると考えられる）。

【0082】また、本発明は、核酸を含有する材料であれば適応可能であるが、特に、全血、血清、唾液、尿等の臨床検体、或いは、培養細胞、培養細菌等の生物学的な試料、或いは、電気泳動後のゲルに保持された状態の核酸、等が好適である。

【0083】また、本発明は、DNA 増幅酵素等の反応産物や素精製状態の核酸を含む材料に対しても有効である。なお、ここでいう核酸は、2 本鎖、1 本鎖、或いは、部分的に 2 本鎖、もしくは、1 本鎖構造を採る DNA（デオキシリボ核酸）、或いは、RNA（リボ核酸）である。

【0084】また、本発明における固相は、ガラス粒子、シリカパウダー、石英濾紙、石英ウール、あるいは、それらの破砕物、ケイソウ土など、核酸化学素を含有する物質であれば使用することができるが、チップ外へ固相が出ないようにするために、チップの配管への接続部の内径よりも先端部の内径を小さくし、且つ、固相をチップ先端部内径よりも大きな外径を持たせる。あるいは、チップ内の先端部付近に、固相の外径より孔径の小さい保持材を設置する。あるいは、固相自体をチップ内の一部にはめ込める形状で、且つ、内部を液体が通過できる状態で焼結する。上述したような処置が必要であるが、これには公知の加工技術が利用できる。

【0085】また、核酸と固相の接触確率を高める事により、結合効率の向上、及び、作業時間の短縮化が図れるため、分注機構により、チップと容器の間で溶液の吸引、及び吐出操作を複数回行うことが望ましい。

【0086】

【発明の効果】本発明によれば、ノズルの内部へ検体を吸引する際、圧力発生開始時点から一定時間経過後に配管内の圧力を計測し、第 1 の圧力範囲内であれば、さらに、圧力発生を停止した時間において、配管内の圧力を計測し、第 2 の圧力範囲内であれば、ノズル内の固相は

50

(8)

13

正常と判定し、所定の回数吸引と吐出を繰り返し、固相と検体とを接触させる。

【0087】したがって、ノズル内に有する、サンプルを接触させる固相の劣化を正確に判断することができる。検体の前処理装置を実現することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の一実施形態である検体の前処理装置の原理構成概略図である。

【図2】図1に示す前処理装置の外観図である。

【図3】図1に示す前処理装置の平面図である。

【図4】図1に示す前処理装置の動作制御ブロック図である。

【図5】ノズルへのチップの取り付け動作説明図である。

【図6】ノズルからのチップの取り外し動作説明図である。

【図7】核酸捕捉チップの一例の概略構成図である。

【図8】核酸捕捉チップの他の例の概略構成図である。

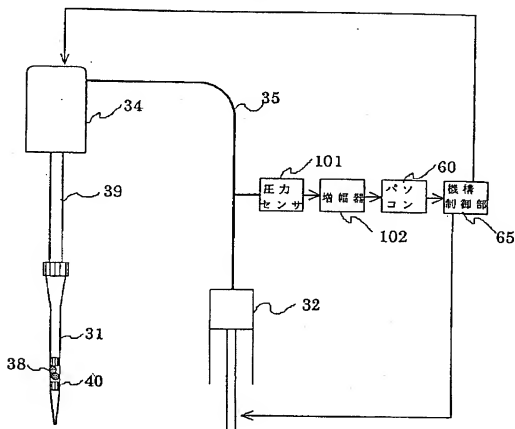
【図9】ノズル又は配管内の圧力変化の図である。

【符号の説明】

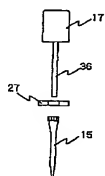
10、32 シリンジ  
12 検体ラック

15 分注用チップ  
16、33 アーム  
17、34 ノズルホルダー  
19 洗浄液ボトル  
20 溶離液ボトル  
22 結合促進剤ボトル  
24 反応容器  
26 精製品収納容器  
27 チップ抜き  
31 核酸捕捉チップ  
36 分注ノズル  
38 石英粒子  
39 液体吸排用可動ノズル  
40 保持材  
41 石英焼結体  
60 パソコン  
62 CRT  
65 機構制御部  
100 検体の前処理装置  
101 圧力センサー  
102 信号増幅器

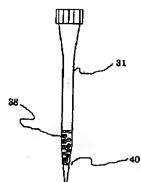
【図1】



【図6】

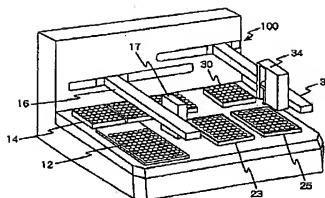


【図7】

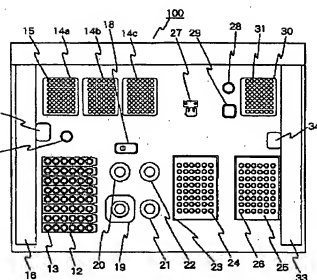


(9)

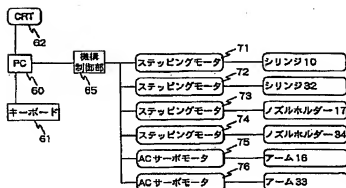
【図2】



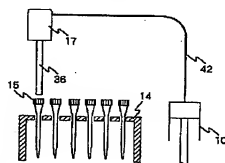
【図3】



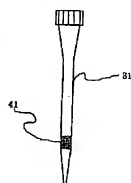
【図4】



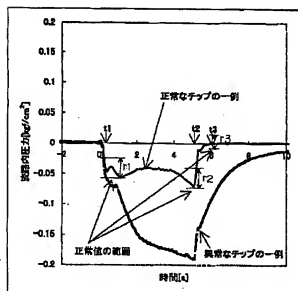
【図5】



【図8】



【図9】



(10)

フロントページの続き

(51) Int. Cl. 7

識別記号

F I

キーワード (参考)

G O I N 35/06

G

F ターム (参考) 2G045 BB03 BB14 CB30 DA80  
2G058 EA08 CB15 EA02 ED02 ED33  
ED35 FA04 FB03 FB05 FB07  
FB12 GB10  
4B024 AA11 AA19 CA01 CA11  
4B029 AA07 AA23 BB20 CC01 FA15